β-细辛醚对谷蠹成虫体内四种酶活性的影响

宋旭红,邱 艳,黄衍章,华红霞*,蔡万伦,杨长举,薛 东 (华中农业大学城市有害生物防治研究所,武汉 430070)

摘要:采用石菖蒲 Acorus gramineus 根茎提取物 β-细辛醚对谷蠹 Rhizopertha dominica 成虫进行拌粮处理,测定 β-细辛醚对谷蠹体内乙酰胆碱酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶、羧酸酯酶和酯酶同工酶的时间效应和剂量效应。结果表明: β-细辛醚对试虫体内 4 种酶的酶活性均表现出较强的时间效应。 $LC_{50}(94.49 \text{ mg/kg})$ 剂量的 β-细辛醚处理后,谷蠹成虫体内乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性随处理时间的延长整体表现为抑制作用,对羧酸酯酶和酯酶同工酶则表现诱导增加作用。低剂量(67.5 mg/kg)β-细辛醚对乙酰胆碱酯酶具有显著的诱导作用,但是随着处理剂量的升高,对乙酰胆碱酯酶的活力多数表现为抑制作用。低剂量($\leq 100.0 \text{ mg/kg}$)β-细辛醚对谷胱甘肽 S-转移酶具有诱导作用,而高剂量($\geq 133.3 \text{ mg/kg}$)β-细辛醚对谷胱甘肽 S-转移酶具有抑制作用。β-细辛醚对羧酸酯酶的活性多数表现为诱导作用,提高 β-细辛醚的处理剂量可提高羧酸酯酶的活力。不同剂量的 β-细辛醚处理对谷蠹酯酶同工酶均具有显著的诱导作用,但诱导效果与处理剂量关系并不显著。

关键词: 谷蠹; 石菖蒲; β-细辛醚; 乙酰胆碱酯酶; 谷胱甘肽 S-转移酶; 羧酸酯酶; 酯酶同工酶中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)09-0986-06

Effect of β -asarone on the activities of four enzymes in adults of *Rhizopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae)

SONG Xu-Hong, QIU Yan, HUANG Yan-Zhang, HUA Hong-Xia*, CAI Wan-Lun, YANG Chang-Ju, XUE Dong (Institute of Urban Pest Control, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Four important enzymes including acetylcholinesterase (AChE), glutathione-S-transferase (GSTs), carboxylesterase (CarE) and esterase isoenzyme (EST isoenzyme) in *Rhizopertha dominica* adults were studied after treated with β-asarone extracted from *Acorus gramineus* roots and shoots. The results indicated that activities of the four enzymes showed strong time-effect. Activities of AChE and GSTs were inhibited by β-asarone at a dosage of 94.49 mg/kg with the exposure time prolonged. While the activities of CarE and EST isoenzymes were induced by β-asarone at the same dosage. The β-asarone at a low dosage (67.5 mg/kg) showed marked induction effect on AChE activity. However, with the dosages of β-asarone increasing, AChE activity was mostly restrained. β-asarone showed induction effect on GST at a low dosage (\leq 100.0 mg/kg), but showed inhibitory effect at a high dosage (\geq 133.3 mg/kg). With the dosages of β-asarone increasing, the CarE activity was somewhat promoted. β-asarone induced EST isozyme activity at different dosages, but the induction effect was not significantly correlated with the treated dosages.

Key words: Rhizopertha dominica; Acorus gramineus; β-asarone; acetylcholinesterase; glutathione-S-transferase; carboxylesterase; esterase isoenzyme

谷蠹 Rhizopertha dominica (Fabricius),常发生于粮食储藏的初期,取食完整粮粒,是一种重要的初期性储粮害虫,通常蛀食危害稻谷、小麦和干果等储藏物,被蛀食后的小麦品质下降,生活力显著降低。目前,我国在各级粮库中主要采用熏蒸剂和化学防护

剂防治储粮害虫,由此导致谷蠹的抗药性成倍增加(严晓平等,2004),因此开发新型的植物源防护剂势在必行。

石菖蒲 Acorus gramineus Soland 为一种传统中药,在我国分布广泛,临床主要应用于治疗健忘、中

基金项目: 国家"十五"科技攻关计划项目(2004BA523B03)

作者简介:宋旭红,女,1979年6月生,河南许昌人,博士研究生,研究方向为昆虫分子生物学, E-mail: songxuhong0324@ webmail. hzau. edu. cn

^{*} 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: huahongxia@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2008-05-30; 接受日期 Accepted: 2008-07-28

风失语、耳鸣和老年痴呆等疑难病症(吕刚和李婷婷,2006)。华中农业大学城市有害生物防治研究所近年来筛选和研究了多种植物材料对储粮害虫的生物活性,发现天南星科植物石菖蒲提取物及粉剂对玉米象、谷蠹等主要储粮害虫具有很好的触杀、熏蒸及驱避等作用(姚英娟,2006a,2006b; Huang et al.,2007)。

以往对石菖蒲或其提取物 β-细辛醚的研究主要集中在成分分离、结构鉴定和生物活性研究领域(Tikku et al., 1978; Koul, 1987; El-nahal et al., 1989; Ciccia et al., 2000; Bizzo et al., 2001)对害虫的作用机理少有涉及。因此,本文对石菖蒲根茎提取物β-细辛醚对谷蠹的生物活性进行了深入研究,并就β-细辛醚对谷蠹体内乙酰胆碱酯酶、羧酸酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶、酯酶同工酶酶活性的影响进行了首次探讨,以期找出β-细辛醚对试虫作用的靶标,并为其开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

- **1.1.1** β-细辛醚: 由华中农业大学城市有害生物防治研究所从石菖蒲新鲜根茎中分离制备,经 GC-MS测定,β-细辛醚的纯度为 97.03%。
- **1.1.2** 供试昆虫: 谷蠹,来自于华中农业大学城市有害生物防治研究所。用半碎小麦(含水量 $13\% \pm 1\%$),在温度 $29 \pm 1\%$,相对湿度 $75\% \pm 5\%$ 的饲养箱内饲养,取羽化 $2 \sim 3$ 周龄的成虫供试。
- 1.1.3 化学试剂及主要仪器:乙酰胆碱酯酶测定试剂盒、谷胱甘肽 S-转移酶测定试剂盒、考马斯亮兰蛋白测定试剂盒均由南京建成生物工程公司生产。 $\alpha(\beta)$ -乙酸萘酯,固蓝 B 盐,十二烷基硫酸钠,丙烯酰胺,甲叉双丙烯酰胺,过硫酸铵,溴酚蓝,甘氨酸,固蓝 RR 盐均为 Sigma 公司生产;琼脂糖(西班牙 Biowest 公司);毒扁豆碱(瑞士 Fluka 公司);其他试剂均为国产分析纯。

Dycz28a 垂直板电泳槽及 DYY-Ⅲ2 稳压恒流电泳仪(北京六一仪器厂); 752 紫外-光栅分光光度计(上海分析仪器总厂); CRG 系列高速冷冻离心机(日本日立有限公司); 电子天平(上海海康电子仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 生物活性测定:采用饲料拌粮法(张兴等, 1992),按照饲料中的用药量,将β-细辛醚用丙酮稀

释为 0.003, 0.002, 0.0015, 0.0012 和 0.001 g/mL 5 个 浓度, 分别取 4 mL 药液均匀滴入 60 g 小麦中(每皿粮食中使用剂量相当于 β -细辛醚 200.00, 133.33, 100.00, 80.00 和 66.67 mg/kg)混匀, 待丙酮完全挥发后每皿接入试虫 30 头。每处理重复 5 次, 对照滴加同体积的丙酮。 24, 48 和 72 h 检查试虫死亡情况,计算校正死亡率,并求出毒力回归方程和致死中浓度(LC_{50})。以期为下一步生化试验的试虫处理找出合适的处理时间和处理剂量。

1.2.2 酶活性测定:取处理过的试虫,称取 0.1 g,以预冷的蒸馏水洗净,用滤纸吸干水后置于手动匀浆器中,加入 0.9 mL 生理盐水后在冰浴中制成 10%的组织匀浆,将匀浆液转移到离心管中,以 4℃下6 000 r/min离心 10 min,取上清液为待测酶液,保存于 - 20℃冰箱内备用。以上酶液提取过程均在冰浴中进行,所用缓冲液、匀浆器都需预冷,以防酶活性丧失。

蛋白质含量、乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性测定按照试剂盒说明书进行,羧酸酯酶活性参照 van Asperen(1962)的测定方法; 酯酶同工酶测定参照张龙翔(1997)方法,采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳进行测定。

1.3 数据统计与分析

用 Excel 分析得出不同时间处理酶活力的变化曲线图,并添加标准误。用 DPS 数据处理软件进行统计分析,β-细辛醚对谷蠹体内的几种酶活性影响的时间效应差异显著性采用 t 测验进行分析;β-细辛醚对谷蠹成虫的综合毒力作用和对试虫影响的剂量效应采用 Duncan 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 β-细辛醚对谷蠹成虫的综合毒力作用及毒力 回归方程

分别用药量相当于 200.00,133.33,100.00,80.00 和 66.67 mg/kg 剂量的 β -细辛醚对谷蠹成虫处理 72 h后,最高处理剂量 200.00 mg/kg 条件下试虫校正死亡率达 90%,处理 96 h后试虫死亡率为 100%,并与其他处理在 5%的水平上差异显著。因此可以选择 72 h作为酶源处理的上限时间,200.00 mg/kg 作为 β -细辛醚最高处理剂量。处理 96 h后,试虫的毒力回归直线方程为 y=-10.16+7.67x,致死中浓度为 94.49 mg/kg,在测定 β -细辛醚对谷蠹体内 4 种酶活性影响的时间效应时采用此剂量。

2.2 β-细辛醚对乙酰胆碱酯酶活性影响的时间和 剂量效应

用 94.49 mg/kg 剂量的 β-细辛醚处理试虫后 12 h,试虫乙酰胆碱酯酶的活性被诱导增加,24 h 后 β-细辛醚对试虫体内乙酰胆碱酯酶的活性表现为抑制作用。用 β-细辛醚处理试虫 12 h 时,乙酰胆碱酯酶活力显著高于对照组酶活力,处理 24 h 时酶活力略低于对照,至处理 36 和 72 h 时酶的活力分别显著和极显著低于对照的酶活力,并在处理 36 h 时乙酰胆碱酯酶的活性降至最低(图 1)。

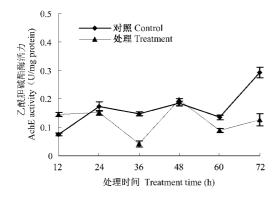


图 1 β-细辛醚不同处理时间对谷蠹成虫 乙酰胆碱酯酶活力的影响

Fig. 1 Effect of different exposure time of β -asarone on AChE activity of *Rhizopertha dominica*

分别用 200.0,133.3,100.0,80.0 和 67.5 mg/kg 剂量的 β-细辛醚处理试虫,24 h 后测定试虫体内乙, 酰胆碱酯酶的活性变化如表 1。低剂量的 β-细辛醚 对乙酰胆碱酯酶活力具有显著的诱导作用,随着 β-细辛醚处理剂量的升高,对乙酰胆碱酯酶的活力多数表现为抑制作用,最高剂量时抑制达到最高水平。用 67.5 mg/kg 低剂量的 β-细辛醚处理试虫后,乙酰胆碱酯酶的活力显著升高,极显著高于对照组和其他剂量处理;80.0,100.0 和 133.3 mg/kg 处理与对照组酶活力差异不显著,200.0 mg/kg 剂量处理的酶活力则极显著低于对照组。

2.3 β-细辛醚对谷胱甘肽 S-转移酶活性影响的时间和剂量效应

用 94.49 mg/kg 剂量的 β-细辛醚处理试虫后,谷 蠹成虫体内谷胱甘肽 S-转移酶活力的波动较为明显(图 2)。用 β-细辛醚处理试虫后,24 h 时酶活力被诱导,并显著高于对照组;在处理 36 h 时,谷胱甘肽 S-转移酶的活力又被抑制并与对照组存在显著差异;48 h 时酶的活力又被诱导,并显著高于对照组,随后处理组酶活力开始下降但与对照组无显著

性差异,72 h 时酶活力显著低于对照。

表 1 β-细辛醚不同处理剂量对谷蠹体内 乙酰胆碱酯酶活力的影响(24 h)

Table 1 Effects of β-asarone at different dosages on AchE activity of *Rhizopertha dominica* (24 h)

剂量 Dosage (mg/kg)	乙酰胆碱酯酶活力 AchE activity (U/mg protein)	比值 Ratio
200.0	$0.2969 \pm 0.1025 \text{ dD}$	0.3066
133.3	$1.2148 \pm 0.2681~{\rm bB}$	1.2546
100.0	$0.8889 \pm 0.2155 \ \mathrm{beBC}$	0.9179
80.0	0.6060 ± 0.0720 eCD	0.6258
67.5	2.4306 ± 0.6068 aA	2.5240
对照 Control	$0.9683 \pm 0.0819 \text{ beBC}$	1.0000

表内同一行数据(平均数 \pm 标准误)字母相同表示差异不显著(小写字母, P < 0.05; 大写字母, P < 0.01)。Data (means \pm SE) followed by the same letters in the same row show no significant differences (small letters, P < 0.05; capital letters, P < 0.01).表 2 和表 3 同。The same for Table 2 and Table 3.

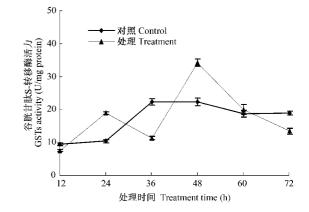


图 2 β-细辛醚不同处理时间对谷蠹谷胱甘肽 S -转移酶活力的影响

Fig. 2 Effects of different exposure time of β-asarone on GST of *Rhizopertha dominica*

用不同剂量的 β-细辛醚对谷蠹进行处理, 24 h 时测定谷胱甘肽 S-转移酶的活性。由表 2 可知: 低剂量($\le 100.0 \text{ mg/kg}$)的 β-细辛醚处理对谷胱甘肽 S-转移酶具有显著的诱导作用,而高剂量($\ge 133.3 \text{ mg/kg}$)的 β-细辛醚处理对谷胱甘肽 S-转移酶具有显著的抑制作用。

表 2 β-细辛醚不同处理剂量对谷蠹谷胱 甘肽 S-转移酶活性的影响(24 h)

Table 2 Effect of β-asarone at different dosages on GSTs activity of *Rhizopertha dominica* (24 h)

剂量 Dosage	谷胱甘肽 S-转移酶活力	比值
(mg/kg)	GSTs activity (U/mg protein)	Ratio
200.0	$3.5875 \pm 0.0103 \text{ dD}$	0.5475
133.3	$2.1030 \pm 0.2259 \text{ eE}$	0.3209
100.0	$7.6551 \pm 0.1642 \text{ bB}$	1.1682
80.0	$8.0017 \pm 0.0256 \text{ bB}$	1.2211
67.5	53.6200 ± 0.3447 aA	8.1824
对照 Control	6.5531 ± 0.0279 eC	1.0000

2.4 β-细辛醚对羧酸酯酶活性影响的时间和剂量效应

用 β-细辛醚 94.49 mg/kg 剂量处理谷蠹成虫,不同处理时段提取酶样测定羧酸酯酶活性。从图 3 可知:β-细辛醚对试虫羧酸酯酶的活性绝大多数表现为诱导作用。处理 12 h时,试虫体内羧酸酯酶的活性显著升高,但 24 h时有所下降。24 h后酶的活性均高于对照,且在 36 h时达到最高,48 h时处理组与对照组酶的活力差异不显著,72 h后酶的活力极显著高于对照。

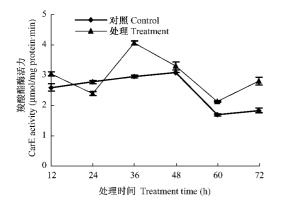


图 3 β-细辛醚不同处理时间对 谷蠹羧酸酯酶活力的影响

Fig. 3 Effect of different exposure time of β -asarone on CarE activity of *Rhizopertha dominica*

从表 3 可以看出,用不同剂量的 β-细辛醚处理 试虫 24 h 后,各剂量处理羧酸酯酶活力与对照比较 均有极显著差异,用 67.5 mg/kg 剂量处理后,试虫羧 酸酯酶的活力最低,仅为对照的 0.5141;随着 β-细 辛醚剂量的增高,羧酸酯酶的活力显著升高,在 80.0 和 100.0 mg/kg 时分别为对照组的 1.3677 和 1.3773 倍; 133.3 mg/kg 处理剂量时酶活性有所下 降; 200.0 mg/kg 处理剂量时酶活性最高,为对照组的 1.7158 倍。

表 3 β-细辛醚不同处理剂量对 谷蠹成虫羧酸酯酶活力的影响(24 h)

Table 3 Effect of β-asarone at different dosages on CarE activity of *Rhizopertha dominica* (24 h)

剂量 Dosage	羧酸酯酶活力	比值	
(mg/kg)	CarE activity (µmol/mg protein•min)	Ratio	
200.0	2.2438 ± 0.0951 aA	1.7158	
133.3	$0.8496 \pm 0.0468 \text{ dD}$	0.6497	
100.0	$1.8011 \pm 0.1308 \text{ bB}$	1.3773	
80.0	$1.7885 \pm 0.1988 \text{ bB}$	1.3677	
67.5	$0.6723 \pm 0.0291 \text{ dD}$	0.5141	
对照 Control	1.3077 ± 0.0187 cC	1.0000	

2.5 β-细辛醚对酯酶同工酶影响的时间和剂量效应

由图 4 可知,94.49 mg/kg 剂量的 β-细辛醚对酯酶同工酶具有一定的诱导作用,同时,诱导效果与处理时间关系密切。用 β-细辛醚处理后,试虫酯酶带 E5 在处理 24 h 后被明显诱导,酶活性明显增加,此后诱导作用较对照明显增加,但酶活性较处理 24 h 减少。此外 β-细辛醚处理后酯酶 E2 的活性较对照也有所增加;β-细辛醚处理试虫 $12 \sim 36$ h,酶带 E3和 E4 活性较对照增加;处理 48 h 后,酯酶同工酶 E6,E7和 E8 的活性较对照均有所增加。

β-细辛醚对酯酶同工酶活性影响的剂量效应研究表明,β-细辛醚对谷蠹酯酶同工酶具有显著的诱导作用。由图 5 可知,用 β-细辛醚各剂量处理试虫后,酯酶同工酶酶带 E6,E7 和 E8 的活性较对照明显增加。处理 24 h 后酯酶同工酶带 E3 和 E5 被明显诱导。E1,E2,E4 和 E9 对照处理与不同药剂处理之间没有明显变化。随着药剂处理浓度的提高,不同处理剂量之间酶带颜色没有显著变化,表明 β-细辛醚对试虫酯酶同工酶的诱导作用与处理剂量关系不

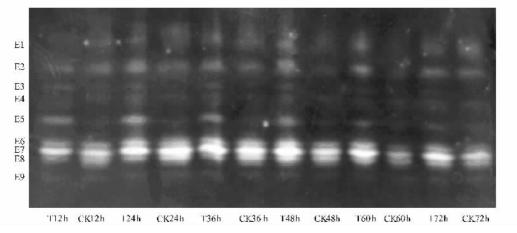


图 4 β-细辛醚对谷蠹酯酶同工酶活力影响的时间效应

Fig. 4 Effect of exposure time of β -asarone on EST isozymes of *Rhizopertha dominica* T: 处理 Treatment; CK: 对照 Control; E1 – E9: 酯酶同工酶酶带 Bands of EST isozymes. 图 5 同 The same for Fig. 5.

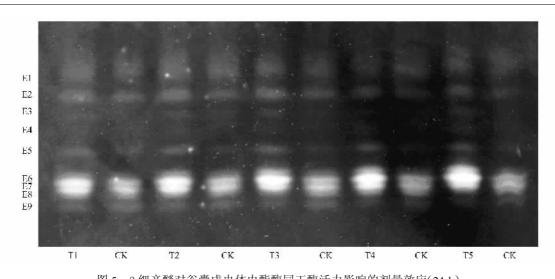


图 5 β-细辛醚对谷蠹成虫体内酯酶同工酶活力影响的剂量效应(24 h) Effect of β-asarone at different dosages on EST isozymes of *Rhizopertha dominica* (24 h)

T1: 200 mg/kg; T2: 133.3 mg/kg; T3: 100 mg/kg; T4: 80 mg/kg; T5: 67.5 mg/kg.

显著。

3 讨论

本研究结果表明,β-细辛醚对谷蠹体内乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性影响具有明显的剂量效应和时间效应。低剂量的β-细辛醚可诱导乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性的增加,而高剂量的β-细辛醚则对两种解毒酶具有抑制作用;随着处理时间的增加,试虫体内的这两种酶活性逐渐下降。乙酰胆碱酯酶、谷胱甘肽 S-转移酶活力的下降可能是造成试虫在药剂处理后死亡的主要原因。

乙酰胆碱酯酶对于神经兴奋传递起重要作用, 本研究结果说明 β-细辛醚可直接作用于昆虫的神经 系统,β-细辛醚被认为可能是一种神经毒剂类杀虫 单体。试虫在用 β-细辛醚处理后,体内羧酸酯酶的 活性升高、酯酶同工酶被诱导,这可能与昆虫在取食 外源有毒物质时其防御机制被诱导有关。有研究结 果表明: 芸香苷、2-十三烷酮和槲皮素能明显诱导 提高棉铃虫羧酸酯酶活性(高希武等,1998),松油烯 -4-醇(马志卿等,2004)、砂地柏提取物也能激活酯酶 (付昌斌和张兴,2000)。

本试验研究了β-细辛醚对几种解毒酶活性的影响。由于β-细辛醚对谷蠹成虫羧酸酯酶的活力具有诱导作用,长时间、高剂量的使用可能提高该试虫对β-细辛醚的抗药性。此外,对谷蠹酯酶同工酶的研究也进一步证实了对解毒酶的诱导作用。因此有必要进一步深入研究β-细辛醚对谷蠹的抗性机理,为指导合理用药提供理论依据。

此外,应深入开展对磷酸酯酶、超氧化物岐化酶、多功能氧化酶、三磷酸腺苷酶等其他杀虫机理的研究,为提高药效和害虫抗性治理提供参考依据。

参考文献(References)

Bizzo HR, Lopes D, Abdala R V, Pimentel FA, de Souza JA, Pereira MVG, Bergter L, Guimaraes EF, 2001. Sarisan from leaves of Piper affinis hispidinervum C. DC (long pepper). Flavour and Fragrance Journal, 16(2): 113 – 115.

Ciccia G, Coussio J, Mongelli E, 2000. Insecticidal activity against Aedes aegypti larvae of some medicinal South American plants. Journal of Ethnopharmacology, 72: 185 – 189.

El-nahal AKM, Schmidt GH, Rishal EM, 1989. Vapour of Acorus calamus oil-a space treatment for stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 25: 211 – 216.

Fu CB, Zhang X, 2000. Effects of the extracts of Savin juniper, Sabina vulgaris Ant. on the activities of several enzymes in Mythimna separta Walker. Acta Phytophylacica Sinica, 27(1): 75 - 78. [付昌斌,张兴, 2000.砂地柏提取物对粘虫幼虫体内几种酶系活性的影响.植物保护学报, 27(1): 75 - 78]

Gao XW, Zhou XG, Wang RJ, Zheng BZ, 1998. Distribution and purification of acetylcholinesterase in cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae). Acta Entomologica Sinica, 41(Suppl.): 19 – 25.[高希武,周序国,王荣京,郑炳宗,1998.棉铃虫乙酰胆碱酯酶(AChE)的体躯分布及部分纯化.昆虫学报,41(增刊): 19 – 25]

Huang YZ, Yang CJ, Xue D, Akinkurolere RO, Yao YJ, 2007. Contact and repellency activities of ethanol extracts from 20 medicinal plants against *Rhizopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera: Bostrichidae). *Acta Entomologica Sinica*, 50(2): 118 – 124. [黄衍章, 杨长举, 薛东, Akinkurolere RO, 姚英娟, 2007. 20 种药用植物乙醇提取物对谷蠹的触杀和驱避活性.昆虫学报, 50(2): 118 – 124]

Koul O, 1987. Antifeedant and growth inhibitory effects of calamus oil and neem oil on *Spodoptera litura* under laboratory conditions. *Phytoparasitica*, 15(3): 169 – 180.

- Lv G, Li TT, 2006. Review on research progress of Rhizoma Acori Tatarinowii. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 17(7): 1 291 1 292. [吕刚, 李婷婷, 2006. 石菖蒲的研究进展. 时珍国 医国药, 17(7): 1 291 1 292]
- Ma ZQ, Feng JT, Huang SZ, Zhang X, 2004. The effect of terpinen-4-ol on several enzymes in housefly. *Musca domestica*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 31(3): 283 288. [马志卿, 冯俊涛, 黄石周, 张兴, 2004. 松油烯-4-醇对家蝇体内几种酶系的影响. 植物保护学报, 31(3): 283 288]
- Tikku K, Saxena BP, Koul O, 1978. Oogenesis in *Callosobruchus chinensis* and induced sterility by *Acorus calamus* L. oil vapours. *Annales de Zoologie-Ecologie Animale*, 10(3): 545 551.
- van Asperen K, 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. J. Insect Physiol., 8: 401 416.
- Yan XP, Li WW, Liu ZW, Qin ZG, Wu XQ, Song YC, Shen ZP, 2004. Investigation of phosphine-resistance in major stored grain insects in China. *Grain Storage*, 4(32): 17 19. [严晓平,黎万武,刘作伟,覃章贵,吴秀琼,宋永成,沈兆鹏,2004.我国主要储粮害虫抗性调查研究.粮食储藏,4(32): 17 19]
- Yao YJ, Yang CJ, Xue D, 2006a. Control effect of the powder, extract and

- compound of *Acorus gramineus* to *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Associatio*, 21(5): 133 138. [姚英娟,杨长举,薛东,2006a. 石菖蒲粉、提取物及复配剂对玉米象的防治效果.中国粮油学报,21(5): 133 138]
- Yao YJ, Yang CJ, Xue D, 2006b. Bioactivities of extracts from *Acorus gramineus* Soland against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 25(6): 614 617.[姚英娟, 杨长举,薛东,2006b. 石菖蒲提取物对玉米象的驱避与触杀作用.华中农业大学学报,25(6): 614-617]
- Zhang LX, Zhang TF, Li LY, 1997. Methods and Technology of Biochemistry. 2nd ed. Higher Education Press, Beijing. 111 116. [张龙翔,张庭芳,李令媛,1997.生化实验方法和技术(第 2版). 北京: 高等教育出版社.111 116]
- Zhang X, Wang XL, Hu ZL, 1992. Plants screening of inhibiting the population formation of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Grain Storage*, 21(3): 3-9.[张兴,王兴林,胡兆农,1992.抑制赤拟谷盗种群形成的植物样品筛选研究.粮食储藏,21(3): 3-9]

(责任编辑: 赵利辉)